

УДК 665.3

## ПУТИ РЕШЕНИЯ ПРОБЛЕМЫ ВОЗНИКНОВЕНИЯ ПРИМЕСЕЙ СЛОЖНЫХ ЭФИРОВ МОНОХЛОРПРОПАНДИОЛА И ГЛИЦИДОЛА В РАСТИТЕЛЬНЫХ МАСЛАХ

<sup>1</sup>П. А. Некрасов, д. т. н., профессор; <sup>2</sup>Н. А. Ткаченко, д. т. н., профессор;

<sup>1</sup>А. П. Некрасов, к. т. н., профессор

<sup>1</sup>Национальный технический университет «Харьковский политехнический институт», г. Харьков, Украина

<sup>2</sup>Одесская национальная академия пищевых технологий, г. Одесса, Украина

Безопасность пищевой продукции – это ценное и неотъемлемое благо. Каждый из нас ежедневно употребляет пищевые продукты и должен быть уверен в том, что они не представляют собой опасности ни для его для здоровья, ни здоровья его близких. Растущая глобализация пищевых рынков ставит перед персоналом, отвечающим за обеспечение безопасности пищевой продукции, все новые и новые задачи.

Одной из таких задач является минимизация в рафинированных растительных маслах содержания сложных эфиров монохлорпропандиола и глицидола, представляющих потенциальный риск для здоровья человека [1]. В Европейском Союзе действует рекомендация Комиссии 2014/661/EU от 10 сентября 2014 года, согласно которой следует проводить мониторинг содержания указанных соединений в пищевой продукции.

Проблему можно решить, лишь поняв механизмы образования сложных эфиров монохлорпропандиола и глицидола в маслах, освоив методологию их анализа, и на основании полученных знаний выработать необходимую стратегию действий.

**Механизмы образования в пищевых растительных маслах сложных эфиров монохлорпропандиола.** Хлор является достаточно распространенным в природе элементом. Поэтому можно предположить о достаточно широком многообразии источников хлора, как органической, так и неорганической природы, которые могут быть потенциальными предшественниками сложных эфиров монохлорпропандиола (СЭ-МХПД), образующихся при производстве пищевых растительных масел. Входящие в состав масел липиды, такие как ацилглицерины, фосфолипиды и гликолипиды теоретически могут реагировать с хлорсодержащими соединениями при рафинации масел с образованием СЭ-МХПД. Безусловно, природа прекурсоров будет зависеть как от типа масла, его качества, так и от технологий его извлечения, переработки и модифицирования.

Хотя СЭ-МХПД могут образовываться в большинстве рафинированных растительных масел, наибольшее их содержание было обнаружено в рафинированном пальмовом масле [2]. Именно поэтому последнее используется как модельное для многих исследований.

Одними из первых вопросов касательно предшественников сложных эфиров монохлорпропандиола являются происхождение хлора, участвующего в образовании СЭ-МХПД на этапе рафинации масел, и почему его содержание в нерафинированном пальмовом масле превосходит аналогичный показатель для других нерафинированных растительных масел [3].

В статье [4] показано, что многие источники ковалентно связанного хлора, такие как  $\text{FeCl}_3$ ,  $\text{FeCl}_2$ ,  $\text{MgCl}_2$  и  $\text{CaCl}_2$ , присутствуют в нерафинированном пальмовом масле в количестве порядка миллионных долей (мг/кг). Для того, чтобы установить состав превалирующих органических доноров хлора, авторы выполнили комплекс исследований с использованием высокоэффективной жидкостной хромато-масс-спектрометрии. Анализу подвергалось пальмовое масло, как извлеченное из вручную собранных плодов, так и полученное в промышленных условиях. Результаты исследований позволили установить структурные и брутто-формулы основных хлорорганических соединений, присутствующих в пальмовом масле (рис. 1).

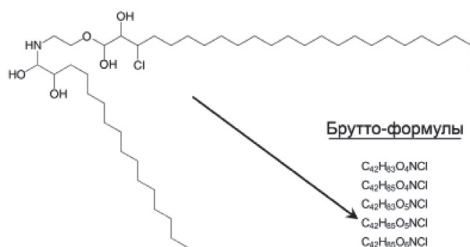


Рисунок 1. Предполагаемая структура и брутто-формулы основных хлорорганических соединений, обнаруженных в нерафинированном пальмовом масле

Авторы предполагают, что обнаруженные хлорорганические соединения по своей структуре похожи на фитосфингозины и являются эндогенными растительными метаболитами, а не экзогенными контаминантами. Таким образом, совокупности основных доноров хлора в разных партиях сырья могут варьироваться, что будет в дальнейшем сказываться на различном протекании процесса образования СЭ-МХПД.

Если говорить о наиболее вероятных липидных прекурсорах СЭ-МХПД в растительных маслах, то вначале было высказано предположение, что ими могут являться неполные ацилглицерины, в частности диацилглицерины (ДАГ) [5]. Предположение было основано на том, что наибольшее содержание СЭ-МХПД было обнаружено в маслах, полученных из мякоти масличных плодов, таких как пальмовое и оливковое. Указанные масла, как известно, содержат повышенное

содержание ДАГ, образующихся в результате гидролиза под действием липолитических ферментов [6]. Однако данная гипотеза было опровергнута в целом ряде дальнейших исследований [7, 8]. Их результаты показали, что хотя ДАГ могут теоретически реагировать с донорами хлора с образованием СЭ-МХПД, они не являются основным липидными прекурсорами данного процесса.

Поскольку наибольшая часть СЭ-МХПД образуется на этапе дезодорации масел [9, 10], другие сопутствующие вещества липидного характера, например, фосфолипиды и гликолипиды, также не могут существенным образом участвовать в формировании СЭ-МХПД, так как удаляются на предыдущих этапах рафинации, в данном случае – гидратации [6].

С учётом вышеизложенного можно предположить, что наиболее вероятными липидными предшественниками СЭ-МХПД являются триациглицерины (ТАГ), что и было доказано последующими исследованиями [11]. Их результаты показали, что именно ТАГ, а не ДАГ, преимущественно реагируют с донорами хлора в процессе формирования СЭ-МХПД. В результате исследований было установлено, что сложные эфиры 3-монохлорпропан-1,2-диола (СЭ-3-МХПД), основная форма СЭ-МХПД в рафинированных маслах [12], образуются при температуре 180 и выше. Из этого следует, что типичные условия дезодорации существенным образом способствуют образованию СЭ-МХПД. Например, в случае химической рафинации пальмового масла процесс дезодорации происходит при температуре около 240. Если же применяется физическая рафинация, то температура этапа дезодорации, при которой также отгоняются свободные жирные кислоты, может достигать 260–270 [6].

Для того, чтобы установить происхождение хлора, участвующего в образовании СЭ-МХПД в процессе рафинации, в работах [7, 9] исследовали содержание ионов хлора в маслах до и после дезодорации с целью установления корреляции данного показателя с содержанием СЭ-МХПД в рафинированных маслах. Но такая взаимосвязь обнаружена не была. Также потерпела неудачу попытка объяснить образование СЭ-МХПД при дезодорации за счёт хлора, присутствующего в остром паре [13]. И только исследование [4] показало зависимость между термическим разложением хлорорганических соединений, содержащихся в пальмовом масле, и накоплением СЭ-МХПД при тепловой обработке пальмового масла (рис. 2).

Авторы работы [4] отслеживали процесс разложения хлорорганических соединений, обнаруженных в нерафинированном пальмовом масле, методом высокоэффективной жидкостной хромато-масс-спектрометрии и установили, что типичным продуктом разложения указанных соединений является HCl – преимущественный донор хлора в реакции образования СЭ-МХПД при дезодорации.

В ещё одном исследовании [14] методом ИК-спектроскопии было показано, что нагревание ТАГ в присутствии кислот Льюиса ведёт к образованию циклического ацилоксониевого иона.

Таким образом, согласно [11] на сегодня существует два теоретически приемлемых механизма образования СЭ-МХПД (рис. 3).

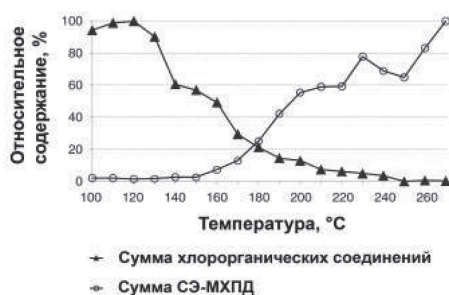


Рисунок 2. Одновременные процессы разложения основных хлорорганических соединений, находящихся в пальмовом масле, и образования СЭ-МХПД при термической обработке масла

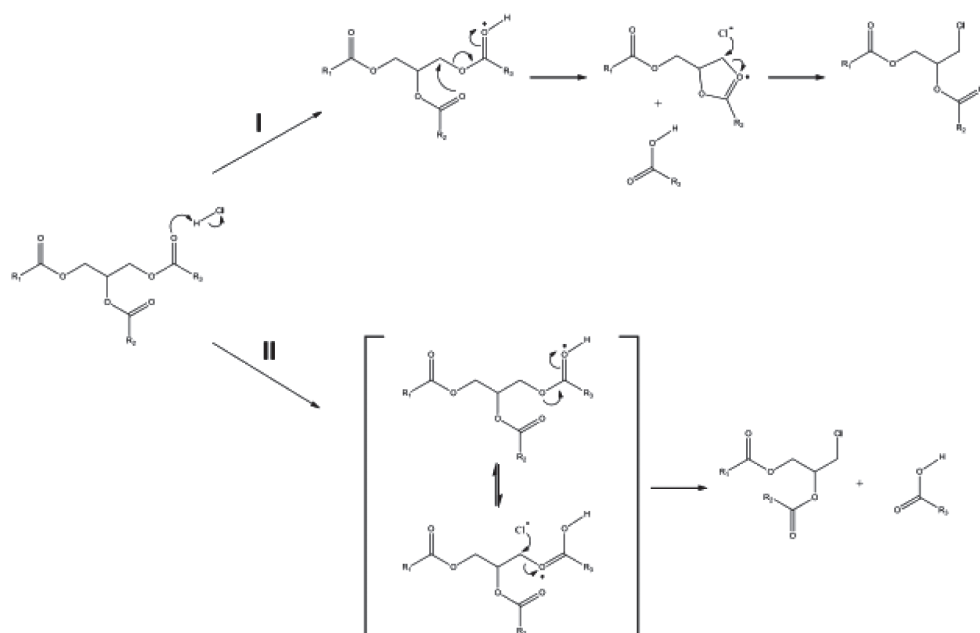


Рисунок 3. Механизмы образования диэфиров монохлорпропандиола из ТАГ в при высоких температурах в присутствии HCl

Оба механизма предполагают первым этапом реакцию ТАГ непосредственно с HCl, образующемуся вследствие термического разложения хлорорганических соединений. При этом за счёт реакции между HCl и карбонильной группой молекулы ТАГ образуется ацилоксониевый ион. После этой стадий реакции первый путь (I) включает отщепление жирной кислоты с образованием промежуточного циклического ацилоксониевого иона, из которого за счёт нуклеофильного замещения хлорид-ионом на первичных (sn-1 и sn-3) атомах углерода молекулы ТАГ образуются диэфиры монохлорпропандиола. Второй путь (II) предполагает вышеуказанную реакцию нуклеофильного замещения непо-

средственно с открытым ацилоксониевым ионом. В этом случае также образуются диэфиры монохлорпропандиола и высвобождается жирная кислота.

**Механизмы образования в пищевых растительных маслах сложных эфиров глицидола.** Как и сложные эфиры монохлорпропандиола, сложные эфиры глицидола (СЭГ) могут образовываться на этапе дезодорации в большинстве пищевых масел.

Если проследить историю обнаружения в составе растительных масел сложных эфиров глицидола, то можно увидеть, что исследователи часто объединяли СЭГ и СЭ-МХПД [13]. Это делалось на основании предположения, что первые и вторые соединения тесно взаимосвязаны и потенциально способны к взаимопревращению, и более того, их предшественники также одинаковы.

Но предположение касательно одинаковых прекурсоров сравнительно недавно было опровергнуто. А именно, в работах [15, 16] было показано, что предшественниками образования СЭГ в маслах при высоких температурах (200 °C и выше) являются моно- и диацилглицерины. Следует отметить, что небольшое увеличение содержания СЭГ отмечается уже при температуре свыше 180 °C, но свыше установленной критической температуры 200 °C наблюдается резкое возрастание скорости накопления в масле СЭГ.

Разработанные авторами исследования [15] механизмы образования СЭГ при высоких температурах (200 °C и выше) из моно- и диацилглицеринов представлены соответственно на рис. 4а и 4б.

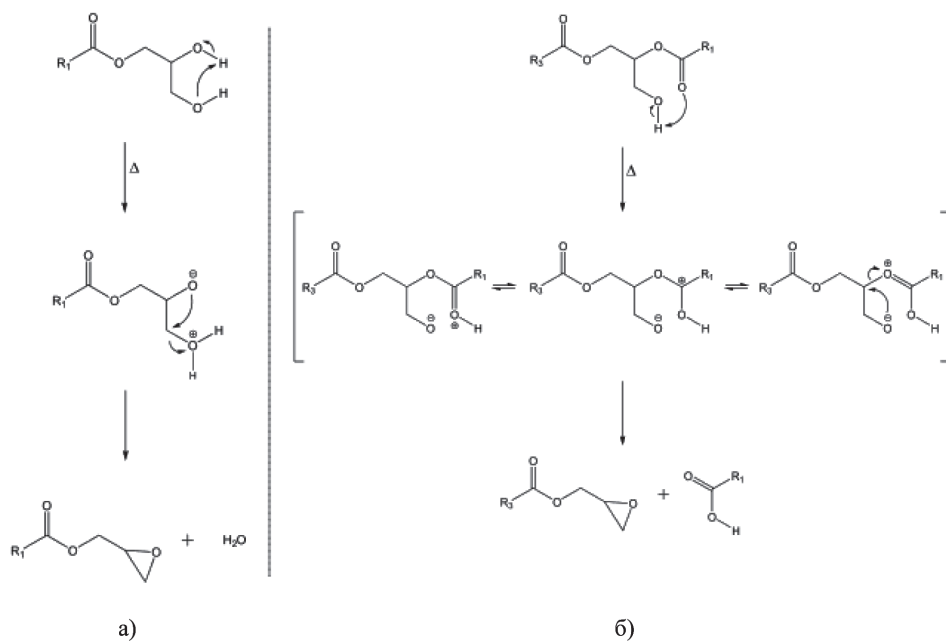


Рисунок 4. Механизмы образования сложных эфиров глицидола при высоких температурах из моноацилглицеринов (а) и диацилглицеринов (б)

**Методы анализа содержания в растительных маслах сложных эфиров монохлорпропандиола и глицидола.** Существуют косвенные и прямые методы анализа содержания СЭ-МХПД и СЭГ.

Косвенные методы основаны на конверсии СЭ-МХПД и СЭГ в соответствующие свободные формы: 2-моноклорпропан-1,3-диол (2-МХПД), 3-моноклорпропан-1,2-диол (3-МХПД) и глицидол. Затем эти три вещества выделяются, подвергаются дериватизации, хроматографически разделяются и определяются количественно. Полученные результаты выражаются в количествах 2-МХПД, 3-МХПД и глицидола, которые могут быть выделены из их этерифицированных форм (в этом случае принято использовать термины «связанный-2-МХПД», «связанный-3-МХПД» и «связанный глицидол») [17–19].

Преимуществом косвенных методов является минимальный объем библиотеки аналитических и внутренних стандартов за счёт превращения перед анализом всех СЭ-МХПД и СЭГ в свободные формы 2-МХПД, 3-МХПД и глицидола. Преимущество прямых методов анализа заключается в том, что поскольку каждый эфир анализируется индивидуально, то суммирование пределов обнаружения каждого эфира обуславливает более высокий предел детектирования анализа в целом по сравнению с косвенным методом [20].

Кроме того, прямые методы анализируют интактные сложные эфиры, в том виде, в котором они присутствуют в маслах, без структурной трансформации [21]. Это важно, например, в случае токсикологических различий между сложными эфирами. В частности, *sn*-1-моноэфир-3-МХПД легче гидролизует *in vivo* по сравнению с *sn*-2 3-МХПД моноэфиром, и они оба могут более легко гидролизоваться по сравнению с 3-МХПД диэфирами, что обуславливает их различные токсикологические свойства *in vivo* [22, 23].

**Пути уменьшения содержания СЭ-МХПД и СЭГ в растительных маслах.** Уменьшить содержание СЭ-МХПД и СЭГ в растительных маслах можно с помощью нижеследующих подходов и методов.

В работе [8] показана эффективность снижения содержания СЭ-МХПД промывкой нерафинированного пальмового масла полярными растворителями, такими как вода или смеси вода-спирт, с целью удаления из масла полярных хлорсодержащих соединений. Из-за возможности превращения полярных хлорсодержащих соединений в неполярные в процессе стерилизации плодов авторами работы [24] предлагается удалять указанные доноры хлора уже не из полученного нерафинированного масла, а из пульпы.

Дополнительному снижению содержания СЭ-МХПД и родственных им соединений может способствовать использование для выращивания масличного сырья почв с низким содержанием солей, применение не содержащих хлор удобрений, воды для полива, гербицидов и инсектицидов. Кроме того, для уменьшения содержания ДАГ и свободных жирных кислот в пальмовом масле рационально собирать урожай сразу же, как только обнаружены первые созревшие гроздья, а также по возможности сократить промежуток времени между сбором урожая и извлечением масла из плодов [25].

В работе [24] показано, что пальмовое масло, извлеченное из пульпы с помощью бифазной полярной системы растворителей (гексан:вода = 2:1) после термообработки при температуре 235 °С в течение 2 часов имеет на 95 % меньшее содержание диэфиров 3-МХПД по сравнению с подвергнутым аналогичной термообработке маслом, извлеченным традиционной неполярной системой растворителей (гексан:2-пропанол = 2:1).

Результаты исследования [10] показали прямую зависимость между кислотностью отбельных глин и содержанием СЭ-МХПД в рафинированном масле. На этом основании было предложено использовать для рафинации природные отбельные глины и кислотно-активированные отбельные глины с более близким к нейтральному значению рН для снижения образования СЭ-МХПД. Также рекомендована промывка для удаления остатков минеральных кислот.

Для снижения содержания СЭГ предлагается выполнять дезодорацию при более низких температурах – вплоть до 200 °С [16]. Этот же подход, хоть и в меньшей степени, справедлив и для СЭ-МХПД [7].

Поскольку важна не только температура, но и продолжительность процесса дезодорации, в работе [26] предложено использовать так называемую двухэтапную дезодорацию. Подобный подход уже применяется в промышленных масштабах для снижения формирования транс-изомеров жирных кислот и оптимизации количества токоферолов в масле [27]. Используя короткий этап дезодорации при высокой температуре (250/270 °С) в комбинации с длительным-этапом при более низкой температуре (200 °С), можно снизить температурную нагрузку на масло. Например, комбинация дезодорации при 200 °С в течение 120 минут с последующей дезодорацией при 250 °С в течение 5 минут ведёт к снижению содержания сложных эфиров 3-МХПД и родственных соединений на треть, а отдельно эфиров 3-МХПД – на две трети по сравнению с традиционной дезодорацией. Двухэтапная дезодорация при 270 °С с предшествующим длительным этапом дезодорации при пониженной температуре имеет следствием снижение содержания 3-МХПД и родственных соединений почти на 80% [28].

Ещё один эффективный путь снижения тепловой нагрузки на масло и самое главное – практически исключая образование сложных эфиров 3-МХПД и СЭГ – молекулярная дистилляция масел вместо дезодорации или в комбинации с дезодорацией в мягких условиях [29]. Также перспективен биокаталитический метод, позволяющий с помощью ферментативных процессов удалять сложные эфиры 3-МХПД из рафинированных масел [30].

Таким образом, с целью снижения содержания СЭ-МХПД и СЭГ в растительных маслах целесообразно действовать в 3-х направлениях:

- 1) уменьшение содержания вплоть до полного исключения прекурсоров СЭ-МХПД и СЭГ в масличном сырье и нерафинированных маслах;
- 2) корректировка условия извлечения масел и процессов рафинации с возможным включением дополнительных этапов рафинации в полный цикл очистки;
- 3) снижение содержания СЭ-МХПД и СЭГ в рафинированных маслах с помощью соответствующих сорбентов либо ферментативными методами.



## Литература

1. Alexander, J. Risks for human health related to the presence of 3- and 2-monochloropropanediol (MCPD), and their fatty acid esters, and glycidyl fatty acid esters in food./J. Alexander [et al.] // EFSA Journal. – 2016. – Vol. 14, iss. 5: 4426. – P. 1–159.
2. Weißhaar, R. Fatty acid esters of 3-MCPD: Overview of occurrence and exposure Estimates/R. Weißhaar // Eur. J. Lipid Sci. Technol. – 2011. – Vol. 113, iss. 3. – P. 304–308.
3. Matthäus, B. Organic or not organic – that is the question: How the knowledge about the origin of chlorinated compounds can help to reduce formation of 3-MCPD esters/B. Matthäus // Eur. J. Lipid Sci. Technol. – 2012. – Vol. 114, iss. 12. – P. 1333–1334.
4. Nagy, K. Mass-defect filtering of isotope signatures to reveal the source of chlorinated palm oil contaminants/K. Nagy [et al.] // Food Addit. Contam. – 2011. – Vol. 28, iss. 11. – P. 1492–1500.
5. Zelinkova, Z. Fatty acid esters of 3-chloropropane-1,2-diol in edible oils/Z. Zelinkova [et al.] // Food Addit. Contam. – 2006. – Vol. 23, iss. 12. – P. 1290–1298.
6. Dijkstra, A. J. The Lipid Handbook/A. J. Dijkstra, J. C. Segers. – Boca Raton, FL: CRC Press, 2007. – 1472 pp.
7. Hrnčirik, K. An initial study on the formation of 3-MCPD esters during oil refining/K. Hrnčirik, G. van Duijn // Eur. J. Lipid Sci. Technol. – 2011. – Vol. 113, iss. 3. – P. 374–379.
8. Matthäus, B. Strategies for the reduction of 3-MCPD esters and related compounds in vegetable oils/B. Matthäus [et al.] // Eur. J. Lipid Sci. Technol. – 2011a. – Vol. 113, iss. 3. – P. 380–386.
9. Franke, K. Influence of chemical refining process and oil type on bound 3-chloro-1,2-propanediol contents in palm oil and rapeseed oil/K. Franke [et al.] // LWT–Food Sci. Technol. – 2009. – Vol. 42, iss. 10. – P. 1751–1754.
10. Ramli, M. R. Effects of degumming and bleaching on 3-MCPD esters formation during physical refining/M. R. Ramli [et al.] // J. Am. Oil Chem. Soc. – 2011. – Vol. 88, iss. 11. – P. 1839–1844.
11. Destailats, F. Formation mechanism of monochloropropanediol (MCPD) fatty acid diesters in refined palm (*Elaeisguineensis*) oil and related fractions/F. Destailats [et al.] // Food Addit. Contam. – 2012b. – Vol. 29, iss. 1. – P. 29–37.
12. Seefelder, W. Esters of 3-chloro-1,2-propanediol (3-MCPD) in vegetable Oils: Significance in the formation of 3-MCPD/W. Seefelder [et al.] // Food Addit. Contam. – 2008. – Vol. 25, iss. 4. – P. 391–400.
13. Pudel, F. On the necessity of edible oil refining and possible sources of 3-MCPD and glycidylesters/F. Pudel [et al.] // Eur. J. Lipid Sci. Technol. – 2011. – Vol. 113, iss. 3. – P. 368–373.
14. Rahn, A. K. K. Monitoring cyclic acyloxonium ion formation in palmitin systems using infrared spectroscopy and isotope labelling technique/A. K. K. Rahn, V. A. Yaylayan // Eur. J. Lipid Sci. Technol. – 2011a. – Vol. 113, iss. 3. – P. 330–334.
15. Destailats, F. Glycidyl Esters in refined palm (*Elaeisguineensis*) oil and related fractions. Part I: Formation mechanism/F. Destailats [et al.] // Food Chem. – 2012a. – Vol. 131, iss. 4. – P. 1391–1398.
16. Craft, B. D. Glycidylesters in refined palm (*Elaeisguineensis*) oil and related fractions. Part II: Practical recommendations for effective mitigation/B. D. Craft [et al.] // Food Chem. – 2012b. – Vol. 132, iss. 1. – P. 73–79.
17. Chung, S. W. C. Simultaneous determination of 2- and 3-monochloropropane-1,3-diol esters in foods by enzymatic hydrolysis and GC–MS detection/S. W. C. Chung, B. T. P. Chan // Chromatographia. – 2012. – Vol. 75, iss. 17. – P. 1049–1056.
18. Ermacora, A. Evaluation of an improved indirect method for the analysis of 3-MCPD esters based on acid transesterification/A. Ermacora, K. Hrnčirik // J. Am. Oil Chem. Soc. – 2012a. – Vol. 89, iss. 2. – P. 211–217.
19. Miyazaki, K. Indirect method for simultaneous determinations of 3-chloro-1,2-propanediol fatty acid esters and glycidyl fatty acid esters/K. Miyazaki [et al.] // J. Am. Oil Chem. Soc. – 2012. – Vol. 89, iss. 8. – P. 1403–1407.
20. Shimizu, M. Comparison of indirect and direct quantification of glycidol fatty acid ester in edible oils/M. Shimizu [et al.] // J. Oleo. Sci. – 2010. – Vol. 59, iss. 10. – P. 535–539.



21. Steenbergen, H. Direct analysis of intact glycidyl fatty acid esters in edible oils using gas chromatography-mass spectrometry/H. Steenbergen [et al.] // J. Chromatogr. A. – 2013. – Vol. 1313. – P. 202–211.
22. Abraham, K. Relative oral bioavailability of 3-MCPD from 3-MCPD fatty acid esters in rats/K. Abraham [et al.] // Arch. Toxicol. – 2013. – Vol. 87, iss. 4. – P. 649–659.
23. Liu, M. Acute oral toxicity of 3-MCPD mono- and di-palmitic esters in Swiss mice and their cytotoxicity in NRK-52E rat kidney cells/M. Liu [et al.] // Food Chem. Toxic. – 2012. – Vol. 50, iss. 10. – P. 3785–3791.
24. Craft, B. D. Factors impacting the formation of monochloropropanediol(MCPD) fatty acid diesters during palm (*Elaeisguineensis*) oil production/B. D. Craft [et al.] // Food Addit. Contam. – 2012a. – Vol. 29, iss. 3. – P. 354–361.
25. Zieverink, M. M. P. Oil Processing Development: 8thEuroFed Lipid Congress/M. M. P. Zieverink, I. Berg. – Munich, Germany, Nov. 21–24, 2010.
26. Matthäus, B. Investigations on the formation of 3-monochloropropane-1,2-diol fatty acid esters (3-MCPD esters) in vegetable oils and development of minimization strategies: Research Association of the German Food Industry/B. Matthäus, K. Freudenstein, L. Brühl. – Bonn, Germany, 2011c.
27. Gibon, V. Future prospects for palm oil refining and modifications/V. Gibon [et al.] // Oléagineux. – 2009. – Vol. 16, iss. 4. – P. 193–200.
28. Matthäus, B. Final results of the German FEI Research Project Concerning 3-MCPD Esters and Related Compounds – Mitigation Strategies: 9th Eurofed Lipid Congress/B. Matthäus [et al.]. – Rotterdam, the Netherlands, Sept 18–21, 2011.
29. Pudel, F. 3-MCPD- and glycidyl esters can be mitigated in vegetable oils by use of short path distillation/F. Pudel [et al.] // Eur. J. Lipid Sci. Technol. – 2015. – Vol. 118, iss. 3. – P. 396–405.
30. Bornscheuer, U. T. Enzymatic removal of 3-monochloro-1,2-propandiol (3-MCPD) and its esters from oils/U. T. Bornscheuer, M. Hesseler. // Eur. J. Lipid Sci. Technol. – 2010. – Vol. 112, iss. 5. – P. 552–556.